

Articular cartilage change after immobilization(ラットに膝関節拘縮モデルにおけ る関節軟骨の変化に関する研究

著者	安藤 晃
号	78
学位授与番号	2639
URL	http://hdl.handle.net/10097/45865

氏 名（本籍）
あん 安 どう 藤 あきら 晃

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 博 第 2 6 3 9 号

学位授与年月日 平 成 21 年 3 月 25 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 1 項該当

研 究 科 専 攻 東北大学大学院医学系研究科
（博士課程）医科学専攻

学 位 論 文 題 目 Articular cartilage changes after immobili-
zation in a rat knee contracture model
（ラット膝関節拘縮モデルにおける関節軟骨の
変化に関する研究）

（主 査）

論文審査委員 教授 井 樋 栄 二 教授 上 月 正 博

教授 出 江 紳 一

論文内容要旨

【目 的】

関節不動化は、整形外科領域で外傷や関節炎などに対する治療として用いられる一方、関節拘縮、関節周囲の骨粗鬆症、関節軟骨の変性を引き起こす。2型コラーゲンは関節軟骨細胞外基質の大部分を占め、この損傷は非可逆的な変化を引き起こす。MMP-8, 13などのコラーゲナーゼは、2型コラーゲンをらせん構造部で分解、関節症の進行に重要な役割を果たしていると考えられている。本研究の目的は、ラット膝関節拘縮モデルを用いて、関節不動化後の関節軟骨の変化、そのメカニズムを解明することである。

【方 法】

成年雄ラット片側大腿骨近位部、脛骨遠位部をプラスチックプレート、スクリューで固定するラット膝関節拘縮モデルを用いた。膝関節内側顆部を通る矢状断切片を作成し、大腿骨、脛骨各3領域（non-contact area, transitional area, contact area）における、形態学的な変化、超音波顕微鏡を用いた組織音速の変化、In situ hybridization、免疫染色を用いた1, 2型コラーゲン、MMP-8, 13の変化を検討した。また、関節軟骨 contact area からRNAを抽出し、定量PCRを用いて、1, 2型コラーゲン、MMP-8, 13の変化を検討した。

【結 果】

(1) 関節軟骨の変性は各領域で見られたが、その変化は異なっていた。Non-contact areaでは、プロテオグリカンの減少、transitional areaでは、軟骨細胞の過形成、クローニング、関節軟骨の厚さの増加、contact areaでは、軟骨細胞の消失が見られた。(2) 関節不動化後、transitional areaでの関節軟骨の組織音速は低下した。(3) 2型コラーゲンの発現は、関節不動化後低下した。免疫染色ではtransitional, contact areaで染色性が低下する一方、non-contact areaでは染色性が保たれていた。(4) transitional area, contact areaでの過形成を示す軟骨細胞では、2型コラーゲンに加え、MMP-8, 13の発現が増加した。(5) non-contact areaでの関節軟骨表層、transitional, contact areaでの過形成軟骨細胞では1型コラーゲンの染色性が増加した。

【考 察】

関節不動化は、メカニカルストレスの変化、関節液循環の低下などによって、non-contact areaにおける軟骨細胞の基質合成能を低下させた。transitional areaでは軟骨細胞の過形成が

見られ、正常軟骨を維持するための修復反応と思われた。これら過形成を引き起こした軟骨細胞では、2型コラーゲンに加え、MMP-8, 13, 1型コラーゲンの発現の増加が見られた。contact area では細胞死を引き起こした。軟骨細胞における発現パターンの変化が、不動化関節における軟骨変性のメカニズムに関与すると思われた。臨床の現場では、これら非可逆的な変化を減らすため、強固な固定は避けるべきであると考えられた。

審査結果の要旨

研究の要旨：本研究では、ラット膝関節拘縮モデルを用いて、関節不動化後の関節軟骨の変化を詳細に検討した。不動化によって関節軟骨は変性したが、その変化は部位によって異なっていた。大腿骨・脛骨の関節軟骨が接触しない Non-contact area (NC 領域) では、プロテオグリカンの減少など委縮性変化が見られた。関節軟骨が接触する Contact area (C 領域) では、軟骨細胞死が見られた。NC 領域と C 領域の間の領域である Transitional area (T 領域) では、軟骨細胞の肥大、関節軟骨の厚さの増加など増殖性変化が見られた。軟骨基質の大部分を占める 2 型コラーゲンの発現は不動化により低下した。T 領域における肥大軟骨では 2 型コラーゲンの発現が増加した。免疫染色では、T 領域、C 領域で染色性が低下した。2 型コラーゲンを特異的に分解するマトリックスメタロプロテアーゼ-8 (MMP-8) の発現も不動化により低下したが、T 領域の肥大軟骨では発現が増加した。2 型コラーゲンを強力に分解するマトリックスメタロプロテアーゼ-13 (MMP-13) は正常では発現が見られなかったが、T 領域の肥大軟骨では発現が見られた。また超音波顕微鏡を用いた検討では、変性の強い T 領域において関節軟骨の音速が低下、つまり軟らかくなることが明らかになった。

斬新さ：本研究では、関節不動化による関節軟骨の変性が一般的なものではなく、受けるメカニカルストレスによって大きく異なり、従来報告されている NC 領域、C 領域に加えて新たに T 領域を設定し検討した点が斬新である。また超音波顕微鏡を用いて、変性した関節軟骨の音速が低下することを証明した研究は他に類を見ない。

重要性：整形外科領域の日常診療で頻繁に行われる、関節不動化による関節軟骨の変性が詳細に検討されており、臨床医学上も極めて価値がある研究である。今後再運動による可逆性・非可逆性の研究を加えることにより、さらに価値が高まると思われる。

実験方法の正確性：入念な準備のもとに実験が行われ、統計処理も適切に行われている。また組織学的変化、遺伝子の発現、蛋白の変化など多方面からの検討が行われ、信頼性の高い研究と思われる。

表現の明瞭さ：これまでの問題点に対して、それに対する実験の方法、結果、及び考察が明瞭に表現されている。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。